

能分离手性化合物的固定相—环糊精

王东新

(南京师范大学化学与环境科学学院, 江苏 南京 210097)

[摘要] 介绍了环糊精类化合物在色谱手性分离中的应用及其结构与特性. 简单讲述了目前对环糊精能进行手性分离的原因的几种解释. 分析了环糊精衍生物的种类及其在手性分离中的应用, 特别是近年来, 一些新的环糊精固定相和一些新方法的使用, 使得环糊精的手性分离范围进一步拓宽.

[关键词] 环糊精, 手性分离, 对映体

[中图分类号] O658 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2008)02-0069-06

Cyclodextrin: The Stationary Phase for Chiral Separation

Wang Dongxin

(School of Chemistry and Environmental Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract The construction and properties of cyclodextrins are reviewed. The possible mechanism of chiral separation of cyclodextrins is explained briefly. The derivatives of cyclodextrins and their applications in chiral separation are introduced. In recent years new derivatives of cyclodextrins and application of new methods expanded the area of chiral separation of cyclodextrins.

Key words cyclodextrins, chiral separation, enantiomers

手性化合物是化学中的一种奇特的现象. 一种手性化合物的两个互为对映体的分子中原子的种类与个数完全一样, 原子连接的顺序也完全一样, 但它们却是两种不能重合的分子. 它们互为镜像, 就像左、右手互为镜像一样. 它们在药理学性质上有重大差异, 有些手性分子药物的一个对映体有很好的药效, 而另一对映体却没有药效甚至有剧毒性, 因而分析药品中两种异构体的含量意义重大. 但是两者物理化学性质极其相似, 分离比较困难. 色谱手性分离技术就是解决这一问题的有效手段. 除了对药物对映体的测定分析, 环境分析、地质分析、食品工业、化工生产中的不对称合成都和手性分离技术关系密切. 手性分离可以是气相色谱、液相色谱, 也可以是毛细管电泳等. 气相色谱手性分离具有快速、灵敏、准确的优点, 但是对热稳定性差、难以挥发的化合物不适用. 在手性分离中选择合适的手性分离剂至关重要, 而环糊精 (cyclodextrin, CD) 类的化合物就是其中的首选.

1 环糊精的结构与特性

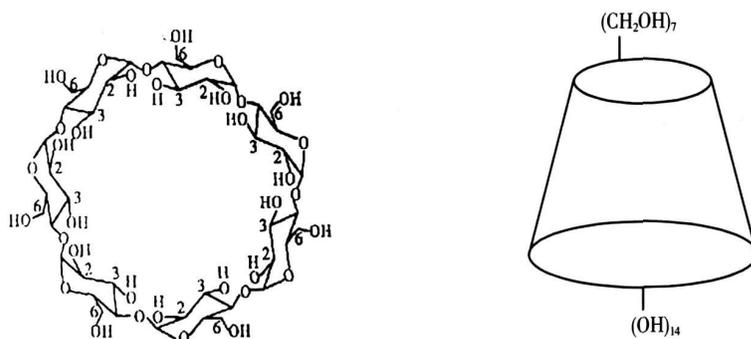
环糊精是 D-吡喃葡萄糖单元通过 1, 4-糖苷键联结成的环状低聚糖. 可用作色谱固定相的分别含 6、7、8 个葡糖, 称为 α 、 β 、 γ -环糊精. 环糊精的结构是一个中空的圆台, 如图 1 所示.

CD 分子空腔的内表面不含羟基, 具有疏水性; 而在外表面的大口端有 2 位和 3 位的仲羟基, 小口端有 6 位的伯羟基. 外表面有亲水性. 母体环糊精熔点高 (290°C), 成膜性差, 广泛使用的 β -环糊精水溶性不好, 因而 CD 的母体通常不适宜作为气相色谱的固定相使用. 为了作为固定相使用, 可将羟基醚化或酯化, 可以降低熔点, 改善水溶性, 提高其可涂渍性与成膜性, 以使其适合作气相色谱的固定相.

收稿日期: 2007-09-07

基金项目: 教育部“211工程”资助项目.

通讯联系人: 王东新, 副教授, 研究方向: 气相色谱的制备新方法与色谱分离. E-mail: dongxin@sohu.com

图 1 β -环糊精的结构Fig.1 The structure of β -cyclodextrin

2 环糊精及其衍生物的分理机理

环糊精 (CD) 能将对映体分开与其结构有关. 构成环糊精的 D-吡喃葡萄糖单元有 5 个手性碳原子, 这种结构使其有手性识别作用; 端口 C-2、C-3、C-6 羟基的衍生化后随取代基的不同可以改变 CD 空腔开口的大小和 CD 的亲水性. 这种结构与性质的变化使 CD 的手性识别范围更为广泛. 其手性分离的基本原理有以下几个方面:

2.1 包结机理

A m strong^[1] 提出, 环糊精手性分离的原理是化合物与 CD 中的手性点由于 π - π 电子作用、氢键作用等而形成了包结物. A m strong 认为它们之间一定要有相当紧密的复合, 包结作用也可发生在环糊精的笼中或表面, 前提是溶质分子与 CD 间构象匹配且有相互作用.

2.2 缔合作用机理

A m strong 等认为缔合物是溶质分子与环糊精形成不完全的包结结构. 形成缔合物的条件是两者之间要有较强的作用力, 如氢键作用、偶极-偶极相互作用. 气相色谱中, 这种作用与溶液中的缔合作用相比, 就显得较小. 许多热力学数据的测定都以缔合作用为前提的.

2.3 构象诱导作用机理

这个作用机理是 V enema^[2] 提出的. 此理论认为溶质分子在接近环糊精的时候, 溶质对环糊精的某些特定区域有诱导作用, 使得环糊精的构象变得适合溶质分子的构象, 因此增加了互相之间的作用. 如果 CD 衍生物的取代基团较小, 它们就可以增加 CD 分子的柔性, 从而增强诱导作用, 也就增加了 CD 的拆分效果; 但如果取代基团较大, 一方面由于较大的空间位阻, 另一方面由于大基团之间较强的互相作用, 使得构象诱导难以进行, 拆分效果反而会下降.

2.4 主客互相作用机理

V enema, K on g^[3] 等人认为溶质分子 (guest 客) 与环糊精 (master 主) 之间互相发生的作用使溶质的对映体得以分离. 这种互相作用涉及氢键作用、偶极-偶极相互作用、范德华力等.

总之, 环糊精手性分离的原理还没有一个统一的理论. 目前积累的数据表明, 分离的机理因环糊精衍生物和手性化合物的结构各异而不相同. 然而其中两者构象的匹配与相互作用的强弱起着关键的作用.

3 环糊精衍生物的种类及其在手性分离上的应用

环糊精的母体, 特别是大量使用的 β -环糊精, 通常并不直接用作固定相来分离手性化合物, 手性固定相是 β -环糊精的衍生物.

根据衍生机团和取代位置的不同, 其衍生物可分为下面几类:

(1) 将环糊精羟基接枝到聚硅氧烷的固定相, 称为 ChirasilDex 这种接枝聚硅氧烷环糊精固定相热稳定性好, 容易涂渍成膜. 国内外很多化学工作者已经合成了多种此类手性固定相. 早在 1990 年 Schurig^[4] 和 Fischer P^[5] 合成了此固定相; 国内的阮宗琴^[6] 等人制备的聚硅氧烷侧链甲基化 β -环糊精键合交联手性毛细管气相色谱柱热稳定性好, 柱寿命长. 此固定相的电色谱分离也有不错的效果; Yi^[7] 合成了环糊

精与聚硅氧烷的共聚物并用于毛细管电泳和超临界流体色谱; 此外还有 Schm alzing D^[8] 等人将全甲基化的 β -CD 与聚硅氧烷接枝后的 ChirasilDex 为气相色谱柱的固定相, 在上面分离了 106 种化合物的对映体, 包括从非极性的烷烃到极性很强的二元醇和游离酸. 分离结果与以全甲基 β -CD 及 OV-1701 混合物为固定相的气相色谱柱上的分离结果进行了比较. 结果表明 ChirasilDex 柱在分离度和选择性方面都有较大优势; Jung M^[9] 将七(2,6-二-氧-甲基-3-氧-三氟乙基)- β -环糊精通过一个含 8 个碳原子的链连接到聚二甲基硅氧烷上, 并以此为固定相进行了 25 手性种化合物对映体的气相色谱分离. 经比较, 这种分离要优于七(2,6-二-氧-甲基-3-氧-三氟乙基)- β -环糊精或七(2,6-二-氧-甲基-3-氧-乙基)- β -环糊精与 OV-1701 混合物的固定相上的分离.

(2) CD 的 2 位、3 位、6 位被完全相同的基团取代. 如陈帆^[10] 合成了全丁基- β -环糊精并与硝酸银混合, 将混合物溶于聚乙二醇 400, 以此为毛细管气谱固定相, 7 组对映异构体、4 组芳香族位置异构体化合物得到满意分离; Dai^[11] 合成了全甲基 β -CD, 或是全乙基 β -CD、全戊基 β -CD, 发现此类固定相, 特别是全甲基 β -CD, 选择性较高, 分离较好.

(3) CD 的 2 位与 3 位被相同的取代基团取代, 6 位是不同的取代基; 或者 2 位与 6 位是相同取代基, 3 位的取代基不同. 例如, Ramos^[12] 研究 γ -丁内酯的衍生物在液相色谱中的拆分使用的手性识别剂是 2,3-二-O-甲基-6-O-特丁基二甲基硅烷基- β -环糊精. 发现它的手性识别能力更加取决于化合物几何构型, 丁内酯取代烷基的极性几乎不起什么作用. 因而在这里环糊精的包结作用比环糊精空腔外的极性互相作用更加重要; 史雪岩^[13] 合成的用于气相色谱的 2,6-二-O-戊基-3-O-苄基- β -CD 对于甲酚、二甲苯等难分离的二取代苯的位置异构体有良好分离能力; 唐课文^[14] 合成的气谱固定相 2,6-二-O-庚基-3-O-三甲基硅烷基- β -CD 对醇、酮、烯烃类的对映体分离良好, 且柱性能稳定, 柱寿命长; 龙远德^[15] 合成了 2,6-二-O-丁基-3-O-乙酰基- β -CD 并制成气相色谱柱, 柱效高, 分离范围广.

(4) 3、6 位取代基相同或 2、3、6 位取代基全不同的环糊精几乎不用来作固定相, 此类报道很少.

环糊精的羟基被不同的基团衍生化会使 CD 的开口的大小、空腔的深度、形成氢键的能力都发生变化, 因而使环糊精对多种化合物的对映体都有手性分离能力.

4 环糊精手性分离的新进展

随着研究的不断深入, 研究色谱的化学工作者在环糊精柱的研制中继续取得进展, 这表现在三方面: 新的环糊精固定相不断被合成出来; 一些新的制柱方法也不断出现; 分析方法的创新与改进. 随着这些新型固定相和新方法的出现, 环糊精柱的分离效果愈来愈好, 色谱柱的性能愈来愈稳定, 气相色谱中允许使用的温度也愈来愈高.

秦金平^[16] 采用全甲基 β -CD 及 2,3-二-O-苄基-6-O-叔丁基二甲基硅烷基- β -环糊精为固定相, 研制了 4 根气相色谱毛细管柱, 研究了稀释比例和柱温对酚类异构体分离的影响. 结果表明全甲基环糊精柱对酚类及二甲酚类能完全分离; 但含有苄基的柱子分离效果较差, 不能完全分离间甲酚与对甲酚.

侯经国^[17] 等人用羟乙基- β -CD 为手性选择剂, 用毛细管电泳对心得安、氧氟沙星、戊脉安、克它命进行分离. 在对各种条件优化以后, 3 种化合物达到基线分离.

尹明明^[18] 等人合成了 3 种 2,6-O-烯丙基-3-O-酰基- β -CD, 其中的酰基分别为戊酰基、庚酰基和辛酰基, 并制成气相色谱柱, 对 15 种环丙烷的衍生物的对映体进行了分离. 这些物质都与除虫菊酯、某些抗生素与止咳药的光学合成有关. 结果表明分离与固定相、溶质的结构与性质有关.

齐素华^[19] 等人用全甲基 β -CD、全戊基 β -CD 及两者的混合物为固定相, 并将它们与 OV-1701 混合制成 3 根气相色谱柱. 3 根色谱柱对氨基酸等多种化合物有良好的手性分离能力, 并发现混合固定相对手性化合物及难分离的化合物有协同作用.

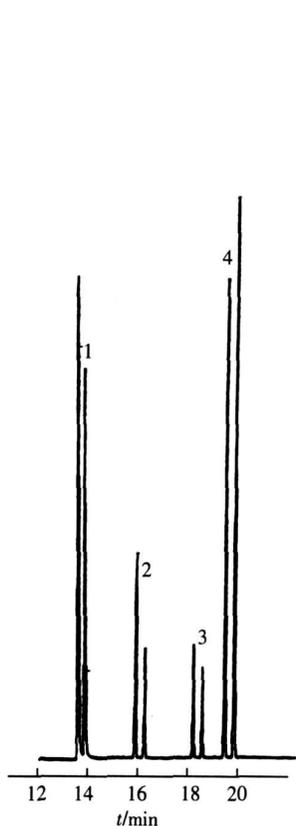
廖燕芝^[20] 等人合成了苯丙氨酸环糊精 (β -CD-6-L-phe) 并将其乙酰化, 然后以此为固定相制备了毛细管气相色谱柱. 结果表明, 此色谱柱对位置异构和对映异构有较强的立体选择性和较好的手性分离效果.

罗爱芹^[21] 等人合成了 2,6-二-O-苄基- β -环糊精键合硅胶固定相. 此固定相有较好的立体选择性, 在液相色谱中位置异构体得到很好的分离. 这是因为苄基取代后, 改变了环糊精的亲水性, 因而改变了环糊精键合固定相的保留性和立体选择性.

Mikus P^[21] 等人以 3 种 N-甲基胺基 β -环糊精为手性选择剂用毛细管区带电泳分离了 2,4-二硝基苯基氨基酸的对映体. 在单取代和三取代的胺基 β -环糊精上对单独的一对对映体分离效果最好; 氨基酸混合物的对映体最好的分离是在单取代的胺基 β -环糊精上取得的; 而位置异构的最好分离是在单取代和二取代的胺基 β -环糊精上得到的. 此结果表明手性选择剂中胺基的甲基化程度的重要性.

Berkecz R^[23] 等人使用 3,5-二甲基苯基胺基甲酰基 β -环糊精为固定相, 用 HPLC 分离了 1-(α -氨基苯基)-2-萘酚及 2-(α -氨基苯基)-1-萘酚的对映体. 用醇对流动相的极性进行调节可以使分离得到优化. 他发现 1-萘酚和 2-萘酚上 α -氨基苯基的位置与本性影响着色谱分离中的保留值和选择性.

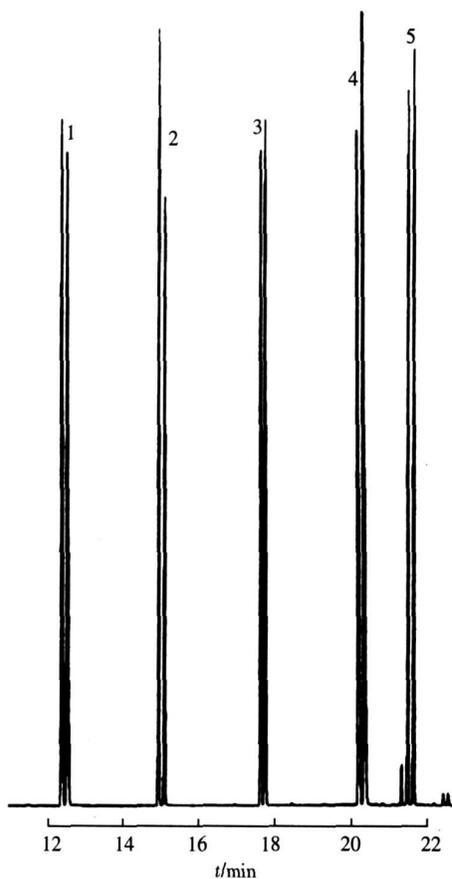
本文作者在上世纪 90 年代首先成功地用溶胶凝胶法制备了毛细管气相色谱柱^[24], 经过不停的研究、探索和试验, 溶胶-凝胶法也被成功地应用于环糊精气相色谱毛细管柱的制备. 这类色谱柱的固定相既包括环糊精与低级的聚硅氧烷生成的共聚物^[25], 也包括环糊精与高级聚硅氧烷生成的接枝侧链化合物^[26]. 这些色谱柱成功地分离了某些化合物对映体. 下面的图 2 与图 3 就是它们对手性内酯对映体的分离.



固定相: 低聚硅氧烷-环糊精共聚物, 连接臂接在环糊精的 6' 位置, 连接臂含 4 个亚甲基和一个醚键; 色谱柱尺寸: 15 m \times 0.25 mm i.d.; 载气: N_2 ; 气化室: 200 $^{\circ}C$; 分流比: 1:100; 检测器: FID, 250 $^{\circ}C$. 柱箱温度: 70-180 $^{\circ}C$, 5 $^{\circ}C/min$; 分离峰: (1), (\pm) γ -甲基- γ -丁内酯; (2), (\pm) γ -丙基- γ -丁内酯; (3), (\pm) γ -戊基- γ -丁内酯; (4), (\pm) γ -己基- γ -丁内酯

图 2 几种内酯在以环糊精共聚物为固定相的溶胶-凝胶毛细管气相色谱柱上的分离

Fig.2 Separation of some lactones on a sol-gel capillary column for GC with a type of copolymeric cyclodextrin as stationary phase



固定相: 环糊精用小环与含氢聚甲基硅氧烷连接, 连接臂含 4 个亚甲基和一个醚键; 色谱柱尺寸: 15 m \times 0.25 mm i.d.; 载气: N_2 ; 气化室: 200 $^{\circ}C$; 分流比: 1:100; 检测器: FID, 250 $^{\circ}C$. 柱箱温度: 70-180 $^{\circ}C$, 5 $^{\circ}C/min$; 分离峰: (1) (\pm) γ -甲基- γ -丁内酯; (2) (\pm) γ -丙基- γ -丁内酯; (3) (\pm) γ -戊基- γ -丁内酯; (4) (\pm) γ -庚基- γ -丁内酯; (5) (\pm) γ -辛基- γ -丁内酯

图 3 几种内酯在以环糊精侧链含氢聚甲基硅氧烷为固定相的溶胶-凝胶毛细管气相色谱柱上的分离

Fig.3 Separation of some lactones on a sol-gel GC capillary column of PMHS stationary phase with pendant cyclodextrin

此外, 还有很多化学工作者近年来对溶胶-凝胶法制备色谱柱这一方法进行了深入的研究. 葛晓霞^[27] 等人使用溶胶-凝胶法制备了以全乙基、全丙基、全辛基环糊精及 2,6-二-O-苄基- β -环糊精为固定相的 4 种气相色谱柱. 理论塔板数达到了 3 000 M , 对苯的衍生物的位置异构有很好的分离效果, 其中对二甲苯、甲酚等化合物在全烷基的柱上的分离比在 2,6-苄基化的柱上的分离更胜一筹. 而且此类色谱柱性能稳定, 柱寿命长.

溶胶-凝胶柱由于使用动态法涂渍固定相, 制柱时间大为缩短. 由于固定相结构的特点, 能在比较高的温度下正常使用. 固定相流失很低, 柱性能稳定, 因而柱使用寿命也得以延长.

在溶胶凝胶柱的制作中, 使用了甲基三甲氧基硅烷或其它硅烷单体. 单体在酸, 如三氟乙酸 (含微量的水), 的催化作用下水解为多羟基化合物. 这些多羟基化合物互相之间脱水缩聚为三维网状结构. 随着聚合度的增加, 凝胶逐渐生成. 在此过程中, 具有羟基结构的固定相也会参加缩聚反应. 石英毛细管内壁上的硅羟基同样也会和上述三维网状结构间发生缩合. 实际的结果是固定相和石英毛细管新的内表面之间形成了化学键. 化学键的形成就是用溶胶-凝胶法制取的色谱柱允许使用温度高而固定相流失低的原因. 此种制柱法由于将毛细管去活、固定相涂渍及固载化同步完成, 制柱时间大为缩短, 而且克服了传统制柱法中去活不均匀等缺点^[24].

5 结论

环糊精以其特殊的结构, 在用作分析中的手性选择剂时, 应用范围广泛, 有较强的手性分离能力, 在医药、环境保护、化工合成等各方面都有很重要的应用. 目前环糊精新的衍生物、新的制柱方法与新的分析方法不断出现. 它的发展在某些方面还不成熟, 人们对其手性分离机理也不十分了解, 因而, 环糊精作为手性选择剂还具有很大的发展空间.

[参考文献]

- [1] Berthod A, Li W, Armstrong D W. Multiple enantioselective retention mechanisms on derivatized cyclodextrin gas chromatographic chiral stationary phases[J]. *Anal Chem*, 1992, 64(8): 873-879.
- [2] Venema A, Henders H, Geest R V. The enantioselectivity of modified cyclodextrins: Studies on interaction mechanisms[J]. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1991, 14(10): 676-680.
- [3] König W A, Lcheln D, Runge T, et al. Cyclodextrins as chiral stationary phases in capillary chromatography. Part VII: Cyclodextrins with an inverse substitution pattern—synthesis and enantioselectivity[J]. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1990, 13(10): 702-707.
- [4] Schurig V, Schmalzing D, Muhleck U, et al. Gas chromatographic enantiomer separation on polysiloxane-anchored permethyl- β -cyclodextrin (Chirasil-dex)[J]. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1990, 13(10): 713-717.
- [5] Fisher P, Aichholz R, Bolz U, et al. Permethyl- β -cyclodextrin chemically bonded to polysiloxanes—a chiral stationary phase with wider application range for enantiomer separation by capillary gas chromatography[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1990, 29(4): 427-429.
- [6] 阮宗琴, 李菊白, 欧庆瑜, 等. 聚硅氧烷侧链甲基化 β -环糊精键合交联手性毛细管柱分离对映体[J]. *化学学报*, 1999, 57(2): 155-160.
- [7] Yi G, Bradshaw J S, Rossiter B E, et al. New permethyl-substituted β -cyclodextrin in polysiloxane for use as chiral stationary phases in open tubular column chromatography[J]. *J Org Chem*, 1993, 58(18): 4844-4850.
- [8] Schmalzing D, Jung M, Mayer S, Rieckert J, Schurig V. Extending the scope of enantiomer separations on Chirasil-Dex by GLC: comparison with permethylated β -cyclodextrin dissolved in OV-1701[J]. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1992, 15(11): 723-729.
- [9] Jung M, Schurig V. Chirasil-Dex-TFA: A new polysiloxane-bonded and immobilizable cyclodextrin stationary phase for enantiomer separation by GC[J]. *Journal of High Resolution Chromatography*, 1993, 16(5): 289-298.
- [10] 陈帆, 莫卫民. 全丁基- β -环糊精与硝酸银的混合液作为毛细管气相色谱固定相的研究[J]. *色谱*, 2000, 18(3): 247-250.
- [11] Dai R J, Fu R N, Zhou W. Application of paraalkyl- β -CDs capillary column for the GC separation of positional isomer of industrial chemicals[J]. *J Microcol Sep*, 1995, 7(5): 455-460.
- [12] Ramos M D, Teixeira L H P, Neto F R D, et al. Chiral separation of γ -butyrolactone derivatives by gas chromatography on 2,3-di-O-methyl-6-O-tert-butylidimethyl- β -cyclodextrin[J]. *J Chromatogr A*, 2003, 985(1/2): 321-331.
- [13] 史雪岩, 邵青龙, 陶丹妮, 等. 一种苯基取代的环糊精衍生物的合成及其气相色谱性能研究[J]. *高等学校化学学报*, 2001, 22(7): 1098-1101.
- [14] 唐课文, 陈国斌, 阎建辉. β -环糊精衍生物手性固定相的研究及应用[J]. *理化检验-化学分册*, 2001, 37(5): 204-205, 208.

- [15] 龙远德, 康星武, 黄天宝. 2,6-二-O-丁基-3-O-乙酰基- β -环糊精手性毛细管气相色谱固定相分离对映体 [J]. 分析化学, 1993, 21(8): 924-926
- [16] 秦金平, 马珂, 喻红梅, 等. 自制环糊精衍生物毛细管柱对甲酚二甲酚位置异构体的分离研究 [J]. 化学世界, 2006(9): 523-530-532
- [17] 侯经国, 杜红英, 高锦章. 羟乙基- β -环糊精作为手性选择剂对手性药物的毛细管电泳拆分 [J]. 分析测试学报, 2006, 25(2): 84-86
- [18] 尹明明, 史雪岩, 边庆华, 等. 毛细管气相色谱手性固定相 2,6-O-烯丙基-3-O-乙酰基- β -环糊精拆分环丙烷衍生物对映体 [J]. 分析化学, 2005, 33(12): 1747-1749
- [19] 齐素华, 艾萍, 袁黎明, 等. β -环糊精衍生物毛细管气相色谱固定相的研究 [J]. 化学研究, 2005, 16(3): 80-83
- [20] 廖燕芝, 陈小明, 陈琨, 等. 一种新型毛细管气相色谱固定相的合成及其色谱性能研究 [J]. 分析实验室, 2005, 24(9): 70-74
- [21] 罗爱芹, 刘立文, 戴荣继, 等. 2,6-二-O-苄基- β -环糊精键合硅胶固定相的合成与色谱性能 [J]. 北京理工大学学报, 2005, 25(1): 87-90
- [22] M ikus P, Kaniansky D. Capillary zone electrophoresis resolutions of 2,4-dinitrophenyl labeled amino acids enantiomers by N-methylated amino-beta-cyclodextrins [J]. Analytical Letters, 2007, 40(2): 335-347
- [23] Berkecz R, Ilisz I, Ivanov-Sztojkov A, et al. HPLC enantioseparation of 1-(α -aminobenzyl)-2-naphthol and 2-(α -aminobenzyl)-1-naphthol analogs on a beta-cyclodextrin-based chiral stationary phase [J]. Chromatographia, 2007, 65(5/6): 337-341
- [24] Wang D X, Chong S L, Malik A. Sol-Gel column technology for single-step deactivation coating and stationary-phase immobilization in high-resolution capillary gas chromatography [J]. Anal Chem, 1997, 69(22): 4566-4576
- [25] 王东新, Malik A. 环糊精聚硅氧烷共聚物溶胶凝胶气相色谱毛细管柱分离特性研究 [J]. 分析化学, 2005, 33(8): 1095-1099
- [26] 王东新, Malik A. 接枝聚硅氧烷环糊精固定相溶胶凝胶毛细管气相色谱柱分离内酯对映体 [J]. 分析化学, 2007, 35(3): 360-364
- [27] 葛晓霞, 齐美玲, 李良, 等. 溶胶凝胶法制备四种环糊精衍生物毛细管气相色谱柱 [J]. 色谱, 2005, 23(3): 305-307

[责任编辑: 顾晓天]